



## **Trabalho Final de Curso**

**Estudo – Caso:**

# **Síndrome de Reed e Ventilação Comprometida**

**Aluno:** Ricardo Batista da Silva

**Orientador:** Professor Doutor Augusto Cassul

**Clínica Universitária de Cirurgia II - Serviço de Otorrinolaringologia do**

**Hospital Santa Maria**

**Ano letivo 2015/2016 – Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa**

## Índice

Lista de abreviaturas .....	3
Resumo .....	4
Introdução .....	6
Caso Clínico .....	8
Discussão .....	13
Apresentação clínica .....	16
Diagnóstico .....	22
Tratamento e Vigilância dos leiomiomas cutâneos .....	24
Conclusões/Comentários finais .....	26
Agradecimentos .....	27
Bibliografia .....	28

## **Lista de abreviaturas**

ADP – Difosfato de Adenosina

ATP – Trifosfato de Adenosina

CCR – Carcinoma de Células Renais

CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

FAD – Flavina Adenina Dinucleotido

FADH – Flavina Adenina Dinucleotido Hidrogénio

FIH - Fatores Indutores de Hipoxia

FH - Fumarato Hidratase

LH - Leiomiomatose Hereditária

LHCCR - Leiomiomatose Hereditária e Cancro de Células Renais

LMC - Leiomiomatose Múltipla Cutânea

LMCU - Leiomiomatose Múltipla Cutânea e Uterina

MLPA - Multiplex ligation-dependent probe amplification

NAD – Nicotinamida Adenina Dinucleotido

NADH – Nicotinamida Adenina Dinucleotido Hidrogénio

ORL - Otorrinolaringologia

SR – Síndrome de Reed

TAC – Tomografia Axial Computorizada

## **Resumo**

O Síndrome de Reed, (SR) é doença autossômica dominante, inicialmente caracterizada por leiomiomas cutâneos e uterinos, tendo posteriormente sido associada ao desenvolvimento de Cancro de Células Renais (CCR) papilares do tipo 2. O gene envolvido na doença foi identificado como FH, um gene que codifica um enzima envolvido no ciclo mitocondrial do ácido cítrico (Ciclo de Krebs), intimamente implicado no metabolismo energético celular.

Neste trabalho apresenta-se o caso de uma mulher de 52 anos, com o diagnóstico de SR, diagnosticado em 2003 e confirmado geneticamente em 2012, que recorre a consulta de Otorrinolaringologia (ORL) em Maio de 2015 referindo sensação de “ouvido bloqueado” e roncopia, bem como sono não reparador, acordando frequentemente durante a noite com dores musculares intensas, que se mantinham ao acordar. Constatou-se desvio do septo nasal e hipertrofia dos cornetos, com rinite hipertrófica, tendo sido submetida a cirurgia.

Cerca de 1 mês após a cirurgia refere menor dificuldade a respirar, aumento do número de horas de sono, nunca mais tendo acordado durante a noite com dores musculares, que se vieram a justificar provavelmente pelo déficit de oxigenação e pelo déficit do enzima Fumarato Hidratase (FH) no músculo esquelético.

## **Summary**

Reed syndrome is an autosomal dominant disease initially characterized by cutaneous and uterine leiomyomas, having subsequently been associated with the development of papillary type 2 renal cell cancer. The gene involved in the disease was identified as FH, a gene encoding an enzyme involved in mitochondrial citric acid cycle ( Krebs cycle ), intimately involved in cell energetic metabolism.

This paper presents the case of a woman of 52 years with a diagnosis of Reed Syndrome, diagnosed in 2003 and genetically confirmed in 2012 which appealed to otorhinolaryngology consultation in May 2015 referring feeling of " blocked ear " and snoring, as well as non-restorative sleep often wake up during the night with severe

muscle pain , which remained upon waking. It was found deviation of the nasal septum and hypertrophy of the turbinates, with hypertrophic rhinitis, having undergone surgery. About 1 month after surgery refers less difficulty breathing, increasing the number of sleep hours, never having woken up during the night with muscle pain , who came to justify probably by oxygenation and Fumarate Hidratase enzyme defice in skeletal muscle.

**Key words:** Reed syndrome, Fumarate Hidratase, leiomyomas, renal cell cancer, Krebs cycle, ventilation

## Introdução

Leiomiomas cutâneos foram pela primeira vez identificados e descritos como tal em 1854 por Rudolf Virchow. Posteriormente, no ano de 1973, Reed e seus colaboradores descreveram pela primeira vez, em duas famílias, membros de três gerações sucessivas que apresentavam leiomiomas cutâneos, leiomiomas uterinos, e/ou leiomiosarcomas, estabelecendo um padrão autossômico dominante de hereditariedade associado a estas manifestações. (Reed, WB. et al 1973)

A associação entre Leiomiomas cutâneos e uterinos foi assim, em função destas descobertas e como homenagem ao principal investigador, denominada de SR durante vários anos.

Estes investigadores constataram que indivíduos afetados tinham uma predisposição aumentada para desenvolver tumores benignos do musculo liso na pele (leiomiomas) e no útero, sendo que as mulheres frequentemente desenvolviam leiomiomas uterinos (fibroides) que eram maiores, mais numerosos e surgiam mais cedo que aqueles que se verificavam na população geral (Reed, WB. et al 1973).

Desde essa altura, vários acrónimos, ou termos relacionados, têm sido utilizados na literatura internacional para este síndrome ou entidades intimamente relacionadas como Leiomiomatose Múltipla Cutânea (LMC), Leiomiomatose Múltipla Cutânea e Uterina (LMCU) e/ou Leiomiomatose cútis et uteri.

Posteriormente a estas descobertas, Launonen et al. (2001) descreveram a associação da LMCU com Cancro de Células Renais (CCR) papilares do tipo 2, que designaram Leiomiomatose Hereditária e Cancro de Células Renais (LHCCR). Eles descreveram duas famílias nas quais Leiomiomas Cutâneos e Uterinos e CCR de células papilares tipo 2 estavam associados, identificando através de análise genética o locus da LHCCR na região 1q. 42-44.

Através de vários trabalhos posteriormente realizados, constatou-se assim que subgrupos destes indivíduos têm risco aumentado de desenvolver CCR, pelo que exames radiológicos adequados devem ser realizados. Nos indivíduos, ou famílias sem este risco, o síndrome pode ser designado de LMC ou LMCU. O termo Leiomiomatose hereditária (LH) e CCR refere-se a famílias com uma prevalência aumentada de tumores

do músculo liso e cancro das células renais como resultado de um defeito genético no enzima FH.

O gene envolvido na doença foi assim identificado como FH, um gene que codifica um enzima envolvido no ciclo mitocondrial do ácido cítrico (Ciclo de Krebs), intimamente envolvido no metabolismo energético celular (Toro, JR. et al 2003). Este enzima medeia a conversão reversível do Fumarato em Malato, sendo que a inativação bialélica do gene FH leva ao risco aumentado de desenvolvimento de LHCCR, um síndrome caracterizado pela presença de tumores benignos da pele e do útero e formas altamente malignas de Carcinoma das Células Renais (CCR) (Liang, Z. et al 2015).

A inativação deste enzima leva à acumulação intracelular de fumarato, causando estabilização dos Fatores Indutores de Hipoxia (FIH) implicados no controlo dos genes antiapoptóticos e proliferativos, bem como à mudança metabólica para a glicólise anaeróbia, sugerindo assim uma forte associação entre a perda de atividade do FH e a tumorigénese. (Espana, A. et al 2015).

De realçar que, nenhuma associação definitiva foi encontrada entre o tipo e o local da mutação com o risco de desenvolver CCR. (Jason J. Emer et al 2011)

A doente a seguir apresentada no caso clínico, e sobre a qual se desenvolve este trabalho, além de todas estas manifestações da doença, apresenta também miopatia metabólica, que se veio associar a este Síndrome, manifestada por rigidez matinal, dores musculares e câibras excessivas depois de atividade física ligeira, referindo ainda sono não reparador, acordando frequentemente durante a noite com dores musculares intensas, sendo a associação entre este quadro e a LHCCR ainda não inteiramente conhecida.

## Caso Clínico

MEGM, 52 anos, natural de Angola, residente em Tomar, divorciada. Consultora privada.

Refere irregularidade menstrual que caracterizou como ciclos menstruais curtos, com hemorragias abundantes e dores fortes, de início pouco depois dos 20 anos, tendo-lhe sido diagnosticados miomas uterinos nessa altura e vários quistos ováricos por volta dos 30 anos. Submetida a várias cirurgias desde então com realização de miomectomia e quistectomia em várias ocasiões, com estudo anatomopatológico dos fragmentos, dando-se a título de exemplo uma intervenção ginecológica a 21-10-1998, aos 34 anos, com realização de miomectomia múltipla e quistectomia do ovário direito por miomatose uterina e quistos luteínicos respetivamente.

O respetivo relatório anatomopatológico revelou:

Descrição macroscópica com 12 fragmentos nodulares que mediam entre 1 e 10 cm e que no seu conjunto pesavam 400 gramas e um quisto do ovário direito, com múltiplos fragmentos irregulares que no seu total mediam 5x5x1 cm.

Descrição microscópica com leiomiomas constituídos por células fusiformes, evidenciando alguns focos com células que apresentavam núcleos de grandes dimensões e com nucléolo proeminente, não se identificando no entanto mitoses.

Diagnostico anatomopatológico: *“Leiomiomas Bizarros + Quistes luteínicos”*

Posteriormente submetida a duas embolizações uterinas dado o quadro de crescimento rápido e aparecimento frequente de novos leiomiomas e quistos ováricos, ambas sem sucesso.

Apresenta múltiplas pápulas eritematosas e cor da pele, distribuídas na zona do ombro direito, e algumas lesões isoladas com as mesmas características ao nível do tronco e membros inferiores. Refere ter-se apercebido das lesões cutâneas aos 34 anos, que foram valorizadas pelo seu médico ginecologista em 2003 que a encaminhou para consulta de dermatologia. Na consulta associou-se pela primeira vez a presença de leiomiomas cutâneos com a presença de leiomiomas uterinos, já com necessidade de várias intervenções cirúrgicas para controlo de sintomas.

Na sequência foi então diagnosticado SR por defice de FH em 2003 e confirmado geneticamente em 2012. Foi detetada uma nova mutação missense na doente e em todos



os seus familiares estudados (uma transição T por G) no exão 4 do gene FH (c.419T>G/p.V140G) (Espana A, et al 2015).

Seguida em consulta de urologia desde Fevereiro de 2009 por episódios de hematúria associados a infeções do trato urinário de repetição, tendo realizado Tomografia Axial Computorizada (TAC) abdomino-pélvica, nessa ocasião, que revelou presença de litíase renal à direita e um quisto no rim esquerdo, inicialmente não complicado.

Em Fevereiro de 2010 e Abril de 2011, repetiu TAC para controlo anual que não revelou alterações evidentes em relação as alterações observadas em Fevereiro de 2009. Por sua vez em Outubro de 2012 realiza nova TAC abdomino-pelvico para controlo que revelou útero miomatoso, já conhecido, e presença no polo inferior do Rim esquerdo de um quisto complexo de 4 cm, evidenciando na região antero inferior uma vegetação captante de contraste de 11 mm compatível com um Quisto de Bosniak tipo 3/4 com elevada probabilidade tumoral. No terço superior do rim direito observou-se ainda um quisto cortical de 9 mm. Observou-se também uma lesão anexial compatível com hidro ou hematosalpinge.

Foi na altura recomendada nefrectomia, que foi realizada no dia 12 de Novembro de 2012 (nefrectomia esquerda parcial), sendo que na mesma ocasião, foi realizada histerectomia total com anexectomia bilateral pelo departamento de ginecologia do mesmo Hospital. O diagnostico anatmopatológico revelou CCR papilar tipo 2 (pT1aNx) no contexto de SR por defice de FH, com margens cirúrgicas livres de tumor e leiomiomatose uterina também no contexto de SR, sem outros achados. Desde então em programa de reavaliação periódica, sem evidência de recidivas da doença.

Recentemente com o diagnóstico de miopatia, associada com defice enzimático relacionado com o SR, sob tratamento com Carnitina e atividade aeróbica desde 2011, tendo esta entidade sido descrita muito recentemente na literatura precisamente com base na investigação feita pela Clinica Universidad de Navarra, onde a doente é acompanhada, com a doente e com um outro seu familiar também com LHCCR, que se apresentavam com quadro de rigidez matinal, dores musculares e câibras excessivas depois atividade física ligeira.

Na sequência deste seguimento, a 31 Outubro de 2014 recorre a consulta de dermatologia para reavaliação referindo agravamento de sintomas, com astenia marcada e diminuição da força muscular relacionada com a suspensão do tratamento com Carnitina e Ibuprofeno por ter apresentado 5 episódios de eritema nodoso, sem nenhuma outra sintomatologia de novo. TAC abdominal e torácico realizado nessa altura sem alterações relevantes em relação a estudo realizado a 23 de Abril de 2014, mantendo sintomatologia.

Recorre à consulta de ORL em Maio de 2015 mencionando sensação de “ouvido bloqueado” e roncopia, referindo ainda queixas inespecíficas respiratórias bem como sono não reparador, acordando frequentemente durante a noite com dores musculares intensas. Referia ainda, de manhã ao acordar, cansaço intenso com manutenção das dores musculares. Após realização de exames complementares de diagnóstico constatou-se desvio do septo nasal e hipertrofia dos cornetos, com rinite hipertrófica. Verificou-se ainda história de Amigdalites de repetição, tendo sido realizada septoplastia, turbinectomia e amigdalectomia.

Cerca de 1 mês após a cirurgia refere diminuição da dificuldade respiratória, ter passado a conseguir dormir 5 horas de forma ininterrupta, atualmente sete, não tendo nunca mais acordado durante a noite com dores musculares. Refere ainda diminuição acentuada das câibras excessivas que sentia após a realização de exercício físico, mesmo quando este era leve, como aquando da realização das suas atividades de vida diária.

**A destacar ainda:**

- Ausência de alergias medicamentosas conhecidas.
- Hipertensão arterial desde os 35 anos, sob tratamento médico desde 2000, com bom controlo, atualmente medicada com Lisinopril 20mg + Hidroclorotiazida 12.5mg.
- Depressão Major em 2006 medicada desde então com Escitalopram 10mg e Mexazolam 1mg.

- Anemia ferropénica seguida em consulta de Hematologia da Clínica Universidad de Navarra, e medicada com ferro oral. Submetida a colonoscopia total em junho de 2013 para estudo da anemia não se evidenciando pontos sangrantes nem alterações relevantes da mucosa.
- Gastrite crónica sob tratamento médico com esomeprazol 20 mg.
- Nodularidade da glândula tiroideia com normofunção sob controlo ecográfico periódico.

### **Antecedentes Familiares:**

Mãe, irmão, tios e primas com diagnóstico genético confirmado de SR. Em todos os familiares em cuja amostra de Ácido Desoxirribonucleico (ADN) foi analisada, tal como na doente, foi detetada uma nova mutação missense (uma transição T por G) no exão 4 do gene FH (c.419T>G/p.V140G). Vários destes indivíduos desenvolveram câibras e dores musculares excessivas após exercício ligeiro. (España A, et al 2015).

Dois familiares desenvolveram CCR: Tia materna aos 52 anos e a sua filha aos 36 anos (prima da doente).

Todas as mulheres com a mutação no gene FH identificada e que apresentaram leiomiomas uterinos, para além da doente, tiveram de ser submetidas a histerectomia: Irmã da doente, duas tias maternas, e uma prima. Pelo contrário, em nenhuma das mulheres sem a mutação do gene FH, mas com presença de Leiomiomas, houve necessidade de se proceder à realização de histerectomia.

Vários familiares com a mutação apresentam Leiomiomas cutâneos, enquanto há outros com a mutação que são assintomáticos, não apresentando nenhuma expressão clínica.

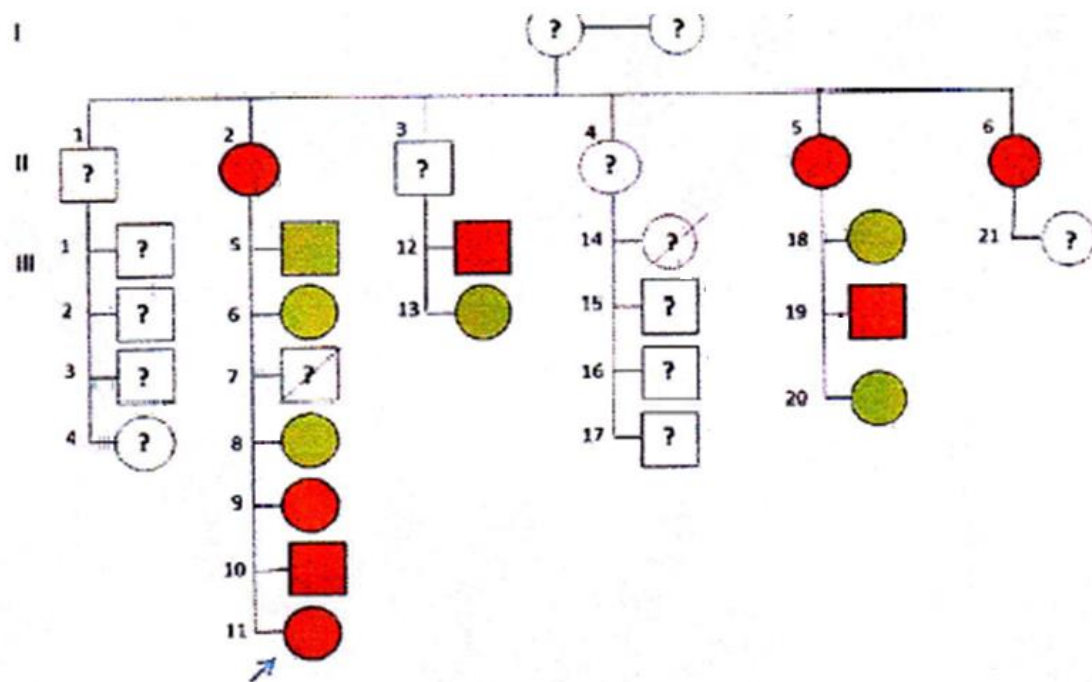


Figura 1- Árvore genealógica da família da doente. Para os doentes em que foi feita análise de amostras ADN, a mesma mutação missense foi detetada (uma transição T por G) no exão 4 do gene FH (c.419T>G/p.V140G). Não foi possível a realização do estudo genético a todos os elementos da família (?)

Familiares com mutação FH assinalados a vermelho; Familiares sem mutação FH assinalados a verde; (?) Familiares nos quais não foi possível realizar estudo genético. Doente do estudo de caso representada pela seta.

Figura adaptada (Espana A, et al 2015).

## Discussão

O SR é um síndrome autossômico dominante de penetrância incompleta, causado pela perda de função do enzima FH decorrente de mutações no gene que o codifica e que como consequência predispõe o aparecimento de leiomiomas cutâneos e uterinos múltiplos, estando também os indivíduos afetados mais suscetíveis ao desenvolvimento de CCR, passando então a ser designado de LHCCR.

Como previamente descrito, Launonen e colaboradores, em 2001, quando descreveram a associação da LMCU com CCR identificaram através de análise genética o locus da LHCCR na região no 1q. 42-44. No mesmo ano, Alam e a sua equipa, numa análise mais precisa estreitaram a localização para a região 14cM no 1q42.3-43. (Alam NA et al, 2001).

Um ano mais tarde, estes grupos em colaboração, relataram que mutações na linha germinativa do gene FH, predispunham para miomas uterinos fibróides, leiomiomas cutâneos e CCR papilares do tipo II herdados de forma dominante. Previa que estas mutações resultassem em proteína ausente ou truncada, ou em substituições ou deleções de cadeias de aminoácidos que se poderiam manter altamente preservadas.

Nesse mesmo ano postulou-se que o enzima FH muito provavelmente atuaria como supressor tumoral na LHCCR, uma vez que estudos que evidenciavam a perda de heterozigosidade, mostraram a perda do alelo selvagem nos tumores cutâneos, uterinos e renais sendo a atividade do enzima baixa ou ausente em indivíduos com Leiomiomas. (Tomlinson et al, 2002).

Os pacientes com LHCCR herdam assim uma mutação da linha germinativa do gene que codifica o enzima FH, bem como uma cópia do alelo selvagem. A formação de tumores uterinos parece ocorrer quando surge uma alteração somática na cópia do alelo selvagem que na maioria dos tumores presentes na LHCCR parece assumir a forma de perda alelica no alelo selvagem, consistente com a ausência ou quase ausência de função da proteína como causa da génese tumoral. (Ortega et al, 2014)

A partir destas investigações ficou-se capacitado para identificar mutações na linha somática e germinativa juntamente com a perda de heterozigosidade no gene que codifica o FH dos tumores tecidulares. Subsequentemente especialistas em leiomioma

múltiplo propuseram que a perda de função da proteína FH é a base da formação tumoral na LHCCR e designaram o gene como foco de susceptibilidade para LHCCR. Mutações missense, nonsense, frameshift, inserção e em locais de splicing formam documentadas no gene FH (Alam NA, et al 2005).

Num estudo realizado por Wei MH. e colaboradores em 2006, onde analisaram mutações de 21 famílias Norte Americanas com LHCCR, foram identificadas mutações na linha germinal no gene FH em todas as famílias. Destas mutações a maioria era missense (71,4%), com as restantes a serem inserção (7,1%), nonsense (14,3%), e nos locais de splicing (7,1%), todas localizadas ao longo de toda a região de codificação do gene FH. Das famílias com LHCCR, 62% (13/21) tinham CCR e 76% (16/21) tinham LC. Das mulheres portadoras da mutação, 100% (22/22) tinham miomas uterinos.

Smith DL, e colaboradores em 2011, ao analisarem famílias que compartilhavam o mesmo haplotipo quanto à sequência do gene que codifica o enzima FH, e através da sua amplificação pela técnica Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA), verificaram que em 14 das 33 famílias estudadas foram identificadas 11 diferentes mutações na linha germinativa, com tradução patogénica, incluindo 4 novas nunca antes descritas, e uma deleção total do gene. Verificaram ainda que os Leiomiomas cutâneos estavam presentes em todos os indivíduos com mais de 40 anos de idade. O número significativamente maior de leiomiomas em mulheres do que em homens levaram os autores a sugerir influência hormonal, não existindo outros fatores genéticos ou ambientais de risco conhecidos.

Mutações no gene FH, têm-se também, como já foi referido, vindo a demonstrar estarem associadas a uma forma altamente maligna de CCR, não sendo no entanto o mecanismo patológico para esta relação inteiramente conhecido.

Uma célula privada de FH funcional tem consequentemente distúrbio metabólico devido ao seu ciclo de krebs defeituoso, o que poderá, numa primeira instância, ser o primeiro fator contributivo para este processo. (Badeloe, S. et al, 2006).

Inicialmente foi ainda proposto que a estabilização dos fatores indutores de hipoxia (FIH), causada pela inibição dependente do Fumarato, que se acumula no interior da

célula, estaria comprometida, sendo este o mecanismo fundamental para a formação de tumor (Isaacs, J. S. *et al*, 2005).

No entanto, investigações posteriores demonstraram que a supressão genética dos FIH não fazia evitar a formação de quistos em ratinhos com defice de FH, o que veio por em causa o papel etiológico dos FIH nestes tumores, levantando a hipótese de que outras vias oncogénicas independentes destes fatores poderiam estar envolvidas (Adam, J. *et al* 2011).

Contudo, e apesar deste estudo, o mecanismo básico da tumorigénese nos pacientes com LHCCR contínua, para muitos autores, provavelmente a ser a movimentação pseudohipoxica semelhante à observada na via patogénica do Síndrome de von Hippel Lindau (Ortega et al, 2014).

Liang Z. e colaboradores (2015), ao combinarem química analítica e modelagem computacional metabólica para investigar as implicações metabólicas de perda do enzima FH em células renais de ratinhos, mostraram que a acumulação intracelular de fumarato causada pela inativação do enzima, conduz também a stress oxidativo, que é mediado pela formação de um aduto covalente entre o fumarato e a glutathione, demonstrando que succinação crónica deste aduto conduz ao aumento do stress oxidativo e persistente senescência celular, observada *in vitro* e *in vivo*. Importante ainda salientar, que estes investigadores demonstraram que a ablação do p21, mediador chave da senescência celular, em ratinhos deficientes em FH resultou na transformação de quistos renais benignos em lesões hiperplásicas, não sendo a globalidade e o mecanismo patológico associado ao desenvolvimento de CCR conhecido e área de consenso.

## **Apresentação clínica**

A apresentação clínica pode incluir Leiomiomas cutâneos, Leiomiomas uterinos, e /ou CCR.

A manifestação dermatológica do SR é a presença de leiomiomas cutâneos, existindo grande variabilidade na sua apresentação. Leiomiomas cutâneos são tumores benignos compostos por finas fibras musculares que emergem dos músculos eretores do pelo, do músculo dartos da pele da genitália ou da fina musculatura dos vasos sanguíneos. Clinicamente, são caracterizados como pápulas ou nódulos cor da pele ou róseo-acastanhados, com diâmetro de 0,2 a 2,0 cm e morfologia variada. Podem ser isolados ou múltiplos, assintomáticos ou dolorosos a pressão ou ao frio (Badeloe S. et al, 2009; García Muret MP. et al, 1988)

Os leiomiomas cutâneos são assim divididos em três categorias: os piloleiomiomas (oriundos dos músculos eretores do pelo); os angioleiomiomas (que se originam do músculo liso vascular) e os leiomiomas dartoides (originados dos músculos dartos da genitália, aréola e mamilo). De um modo geral, afetam as extremidades, particularmente as superfícies extensoras, seguidas do tronco, da face e do pescoço. Apresentam-se como nódulos firmes eritematosos, ou eritemato-acastanhados, intradérmicos, aderentes à pele, mas não aos tecidos profundos, sendo que a presença de leiomiomas cutâneos deve levantar a suspeita da presença de leiomiomas uterinos subjacentes e da possibilidade de um risco aumentado de CCR. Consciência clínica crescente é importante dada a associação entre a doença cutânea, leiomiomas uterinos e a propensão acrescida de CCR agressivo (Jason J. Emer et al, 2011).

A apresentação clínica das várias lesões foi descrita em vários padrões ou distribuições, como bilateral e simétrica, por clusters, lineares, dermatomo-like ou disseminadas (Smith CG. et al, 1998).

É importante considerar a hipótese de Leiomioma em qualquer nódulo indolente ou de crescimento papular associado a dor. Um aumento súbito do tamanho, número de lesões e/ou dor destas, deve ser visto como um agravamento ou raramente como a hipótese de transformação maligna. A maioria dos Leiomiomas não vão regredir espontaneamente,



sendo que em vez disso, caso sejam dolorosos ou esteticamente desagradáveis, requerem tratamento cirúrgico para completa remoção (Jason J. Emer et al, 2011).

Quanto aos Leiomiomas uterinos (fibróides), são os tumores ginecológicos mais comuns em mulheres em idade fértil com uma prevalência a variar entre 20 e 70% (Cramer. SF, et al. (1990); Stewart. EA, 2001), estando presentes em ate 77% das mulheres mais jovens com este síndrome, que se apresentam com história severa de irregularidade menstrual, motivando a realização de histerectomia, apresentando ainda risco acrescido de evolução para Leiomiosarcoma (Ortega et al, 2014).

A idade média de histerectomia em pacientes com LHCCR é de 30 anos, contrastando com os 45 anos da população geral (Toro, et al, 2003), tendo outro estudo verificado que 11 das 21 mulheres portadoras da mutação, foram submetidas a tratamento cirúrgico de miomas uterinos sintomáticos numa idade média de 35 anos (Smith DL et al, 2011).

Quanto à doença miopática metabólica associada ao deficit de FH no músculo esquelético, foi descrita na literatura internacional muito recentemente por uma equipe de investigação da Clinica Universidad de Navarra, equipe que acompanha a doente, e cujo quadro clinico se traduzia por rigidez matinal, dores musculares e câibras excessivas depois de exercício físico leve, não tendo sido descritos ou encontrados até este trabalho outros casos associando LHCCR com dores musculares que pudessem estar relacionadas entre si (Espana A, et al 2015).

O quadro miopático descrito cursa com fadiga, dor e fraqueza muscular sendo de desenvolvimento crónico e progressivo. Os investigadores, através de biopsia do músculo esquelético dos doentes em estudo com deficit de FH, demonstraram uma importante diminuição da atividade do enzima na cadeia respiratória mitocondrial do musculo esquelético, 50% em relação ao grupo controlo, não tendo a sua análise ultraestrutural revelado nenhuma alteração significativa no número ou tamanho das mitocôndrias. (Espana A, et al 2015). Dado que o músculo esquelético obtém a maioria da sua energia a partir do ciclo de krebs, a hipótese que doentes com mutações no enzima FH poderiam também desenvolver disfunção a nível do musculo esquelético, seria desde logo algo com sentido, surgindo a hipótese de um novo espectro de tradução clinica da doença.

A designação ciclo de krebs, surge como homenagem ao bioquímico Hans Krebs, prémio nobel da Medicina e Fisiologia em 1953.

Antes do seu início propriamente dito existe a formação de ácido pirúvico, a partir da glicólise, da qual resulta a formação de Acetil-CoA.

O ciclo de krebs, através do catabolismo de várias biomoléculas tem como objetivo final a obtenção de energia, tendo como substrato precisamente o Acetil-CoA proveniente da glicólise, que através da sua oxidação completa em dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) resulta na formação de equivalentes redutores através de 8 reações sequenciais. Este ocorre na matriz mitocondrial pois é aí que se encontram as principais fontes do seu substrato (Horton, H.R, 2002).

Na sétima reação, o fumarato, resultante da oxidação do succinato na sexta reação, é hidratado a malato pelo enzima FH, que na oitava reação, por ação do enzima malato desidrogenase conduz à formação de oxaloacetato, completando-se assim o ciclo. (Horton, H.R, 2002).

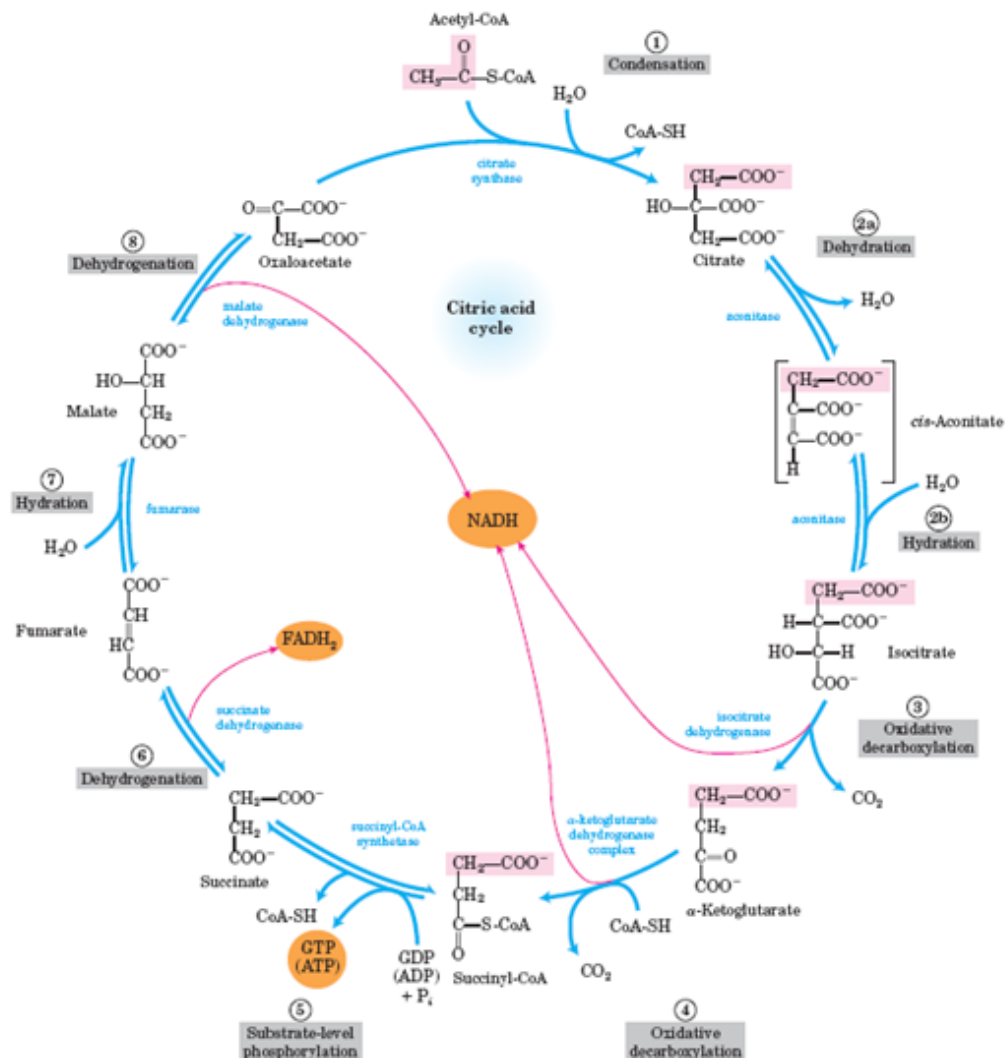


Figura 2: Ciclo de Krebs e etapas intervenientes.

No final de um ciclo de krebs completo, é possível obter como rendimento energético 3 moléculas de Nicotinamida Adenina Dinucleótido Hidrogénio (NADH), uma molécula de Flavina Adenina Dinucleotido Hidrogénio ( $\text{FADH}_2$ ) e uma molécula de Trifosfato de Adenosina (ATP). Apesar de no final de cada ciclo apenas ser produzida uma molécula de ATP, o rendimento global será superior, pois as quatro moléculas de NADH e  $\text{FADH}_2$  obtidas nas diferentes etapas oxidativas do ciclo de Krebs, serão depois transportadas para a cadeia respiratória onde através de fosforilação oxidativa serão geradas mais moléculas de ATP (Picard M, et al, 2012).

Para que um ciclo decorra e se complete normalmente, é necessário que as concentrações dos diversos intervenientes se mantenham mais ou menos constantes, pelo que quando esse equilíbrio é perturbado, todo o ciclo e resultado final ficam comprometidos. O próprio ciclo tem mecanismos de regulação cujo objetivo é a renovação eficiente de algum destes

intermediários em caso de necessidade, as chamadas reações anapleróticas (Akram M, 2014)

A regulação é assim feita em todas as etapas com base na concentração dos substratos e dos produtos deles resultantes (Akram M, 2014).

Assim, de uma forma geral, pode-se dizer que a função do ciclo de Krebs nos músculos e cérebro é oxidar o Acetil-CoA, proveniente da oxidação do ácido pirúvico, para posterior produção de ATP na cadeia transportadora de elétrons ou cadeia respiratória. Esta cadeia é composta por uma série de proteínas recetoras de elétrons, os citocromos, que são capazes de receber e transferir entre si elétrons do composto precedente e transferi-los para o seguinte. Esta passagem dos elétrons pela cadeia respiratória permite a libertação de energia, sendo que em algumas dessas etapas, a energia libertada é suficiente para que uma molécula de Difosfato de Adenosina (ADP) se ligue a um fosfato, originando uma molécula de ATP (Ferne AR, et al, 2004).

A produção aeróbia de energia, que ocorre na mitocôndria, envolve então duas importantes vias metabólicas em associação, o ciclo de krebs e a cadeia transportadora de elétrons, que parecem estar ambas comprometidas na doente do presente estudo de caso, e cujo objetivo final é realizar a oxidação, ou seja remover os iões hidrogénio, dos diferentes substratos energéticos através da utilização das moléculas transportadoras Flavina Adenosina Dinucleótido (FAD) e Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NAD), estando então definidos três estágios de produção aeróbia de energia, a síntese da molécula de Acetil-CoA, a oxidação do Acetil-CoA no ciclo de krebs e finalmente a fosforilação oxidativa ou produção de ATP dependente da disponibilidade suficiente de oxigénio. (Horton, H.R, 2002).

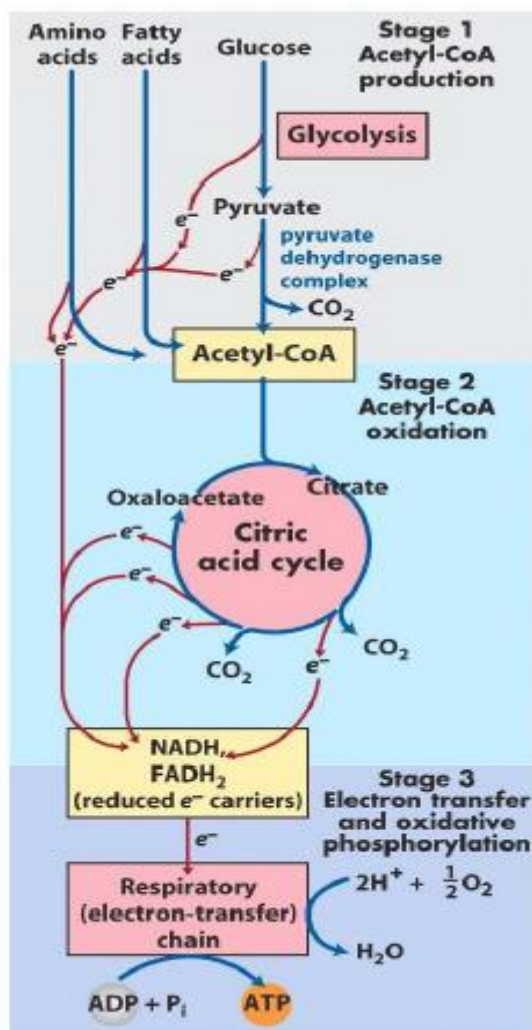


Figura 3- Estágios da produção aeróbia de energia

Desta forma, quando houver disponibilidade suficiente de oxigénio, os hidrogénios das moléculas transportadoras NADH e FADH<sub>2</sub> serão libertados para o interior da mitocôndria contribuindo para a produção aeróbia de ATP. Por outro lado, facilmente se entende que quando a disponibilidade de oxigénio não seja suficiente, o recetor final do hidrogénio será o ácido pirúvico, formando-se o ácido láctico (Ferne AR, et al, 2004).

O quadro miopático descrito pela doente, e que na generalidade se manifestava por mialgias intensas durante a noite, fadiga e fragilidade durante o dia, de desenvolvimento crónico e progressivo, parece assim motivado pelo comprometimento a nível da produção aeróbia de energia, que ocorre na mitocôndria, e que envolvia duas importantes vias metabólicas em associação, o ciclo de krebs e a cadeia transportadora de eletrões. A primeira porque um dos fatores que inibe o ciclo de krebs é a acumulação de um dos seus

substratos, que acontece nos doentes com SR, onde devido a um defeito no gene que codifica o enzima FH, o substrato fumarato é acumulado a nível intracelular, e a segunda porque as alterações que a doente apresentava quando recorreu à consulta de ORL pareciam comprometer uma adequada ventilação, conduzindo a um aporte insuficiente de oxigénio, mesmo em repouso. Assim, a produção de energia poderia ser desviada para a glicólise anaeróbia com produção contínua de lactato, responsável pelas queixas apresentadas pela doente.

De salientar, como já foi dito, que o facto de vários dos familiares da doente, nos quais também foi detetada a nova mutação missense no exão 4 do gene FH, desenvolverem câibras e dores músculo esqueléticas excessivas após exercício ligeiro, não apresentando no entanto um quadro tão exuberante, leva a supor que existirão outros fatores desencadeantes para além dos que foram identificados na consulta de ORL e que levaram à cirurgia na doente. No entanto, estes últimos parecem ter contribuído para um quadro mais exuberante.

## **Diagnóstico**

O diagnóstico de SR pode ser difícil dadas as múltiplas apresentações clínicas possíveis, ainda assim, um diagnóstico rigoroso é fundamental dado o potencial risco de desenvolvimento de neoplasia oculta. A avaliação de qualquer indivíduo que se apresente com múltiplos Leiomiomas cutâneos e uterinos deve portanto envolver uma história e exame físico completo e detalhado.

O diagnóstico é assim um desafio e em última análise requer análise histopatológica. Embora não existam guidelines para rastreio, pode ser difícil diferenciar um simples caso de Leiomioma benigno cutâneo dos associados a LHCCR. Elevado índice de suspeição é necessário como forma a assegurar que os pacientes são corretamente rastreados. Leiomiomas Cutâneos Múltiplos devem levantar a suspeita de doença subjacente e pelo menos uma lesão deve ser histopatologicamente analisada (Jason J. Emer et al, 2011).

Ao exame microscópico de um leiomioma, os feixes de fibras de músculo liso são compostas de citoplasma eosinofílico com núcleo alongado, com pouca ou nenhuma

ondulação (descritas como forma de cigarro ou enguia), sendo intercetados por colagénio dentro da derme (Kilpatrick. SE, et al 1994). Em secção transversal, vacuolização perinuclear pode ser observada, mas em observação por microscopia eletrónica, as células de músculo liso, aparecem como normais. (Kilpatrick. SE, et al 1994). Colorações especiais podem ser utilizadas para distinguir músculo liso de colagénio uma vez que ambos aparecem como rosa avermelhado em hematoxilina-eosina. Tricrómio de Masson vai evidenciar o músculo liso a vermelho e o colagénio a azul-esverdeado. Coloração de Van Gieson destaca o músculo liso a amarelo e o colagénio a vermelho (Spencer. JM, 1996). Os marcadores de diferenciação do músculo liso (desmina e actina) serão positivos (Miettinen M, et al 1985).

Coloração imunohistoquímica será negativa para os recetores de estrogénios e progesterona nos Leiomiomas cutâneos, mas positiva nos Leiomiomas uterinos (McGinley. KM, et al 1997). A atividade do FH em cultura de fibroblastos cutâneos ou de células linfoblásticas pode demonstrar uma diminuição na atividade até 60% (Pithukpakorn. M, et al 1993).

Ortega e seus colaboradores (2014), ao analisarem as características morfológicas e moleculares dos Leiomiomas e dos CCR, em pacientes com LHCCR, concluíram que ambos partilham características morfológicas, nucleares e genotípicas, sendo os CCR menos penetrantes que os leiomiomas nestes indivíduos. Leiomiomas cutâneos presentes na LHCCR frequentemente mostraram semelhanças histopatológicas consistentes com os Leiomiomas uterinos bem como com as células do CCR. Todos os por eles descritos continham nucléolos com inclusões oranginofilicas, com uma aréola perinuclear semelhante à encontrada no núcleo das células do CCR. Esta característica histopatológica pode, segundo os autores, ser considerada a marca chave dos Leiomiomas uterinos e das células do CCR dos doentes com LHCCR.

No entanto, o diagnóstico definitivo deveria ser o genético e como descrito anteriormente, o teste molecular com sequenciação e análise mostrará mutações no gene FH em 80 a 100% dos indivíduos afetados (Alam NA, et al 2005). Se esta análise falha na demonstração da mutação no gene que codifica o enzima FH e existe uma forte suspeita da doença estar presente, através da técnica de amplificação MLPA poder-se-á identificar a totalidade da alteração do gene, onde amostras de ADN podem ser

avaliadas rapidamente quanto a deleções de exões e/ou duplicações no gene FH (Jason J. Emer et al, 2011).

### **Tratamento e Vigilância dos leiomiomas cutâneos**

O tratamento dos leiomiomas cutâneos é ditado pelo número de lesões e pelo grau de desconforto ou incômodo estético. Utilização de cosméticos e evicção dos estímulos que causem a dor tal como o frio e a pressão podem ser as únicas medidas necessárias. Quando apenas algumas lesões estão presentes, a excisão cirúrgica é a medida de eleição para a sua remoção completa, podendo no entanto ter uma elevada taxa de recorrência com necessidade de se recorrer a enxertos de pele para lesões de maiores dimensões. (Jason J. Emer et al, 2011).

Recorrências foram descritas ocorrer entre 6 meses a mais de 15 anos a seguir à excisão (Alam NA, et al 2003). Métodos destrutivos, como eletrodissecação ou a crioterapia, podem ser utilizadas para pequenas, únicas, ou poucas lesões, mas poucos benefícios além da excisão foram demonstrados podendo resultar uma indesejável cicatriz e recorrência da lesão. (Jason J. Emer et al, 2011).

Por seu lado, tratamento medico tem um papel limitado no desenvolvimento e progressão de novas lesões, bem como na resolução das já existentes, mas pode ser utilizado no alívio sintomático da dor.

Fármacos que interfiram com a contração do músculo liso tal como a nitroglicerina, nifedipina, fenoxibenzamina e doxasozina podem causar alívio na dor (Holst VA, et al 2002). A explicação por detrás desta abordagem terapêutica é que a contração do músculo liso com consequente estimulação nervosa é responsável pela dor descrita por estes pacientes como sendo violenta e tipo facada (Batchelor RJ, et al 2004; George S, et al 1997). Fármacos direcionados à atividade nervosa são também de especial interesse dada a densidade nervosa aumentada dentro e na região circundante dos Leiomiomas (Thompson JA Jr. 1985).

Gabapentina e analgésicos tópicos, como a lidocaína ou a capsaicina, podem ser uteis em pacientes com dor induzida pelas variações térmicas (Christenson LJ, et al 2000).



Estudos recentes apresentam resultados promissores com novas abordagens como injeção de toxina botulinica e ablação por laser de dióxido de carbono no controlo da dor (Christenson LJ, et al 2000; Sifaki MK, et al 2009). A toxina botulinica do tipo A é usada em vários síndromes dolorosos pensando-se que o seu modo de atuação seja através da inibição da libertação de neuropeptidos, incluindo substancia P e Glutamato, reduzindo assim os sinais centrais da dor (Sifaki MK, et al 2009). A ablação por laser de dióxido de carbono constitui por sua vez, uma alternativa às técnicas cirúrgicas invasivas, promove a miólise e permite um controlo sintomático da dor (Christenson LJ, et al 2000).

Na doente do estudo de caso descrito, estas lesões foram sempre assintomáticas nunca tendo sido submetida a tratamento.

## **Conclusões/Comentários finais**

Leiomiomas cutâneos são tumores benignos do músculo liso que podem ser um sinal de doença sistêmica subjacente.

Conhecimento crescente da relação entre leiomiomas cutâneos e uterinos, e CCR pode levar a uma detecção cada vez mais precoce e tratamento de um CCR que de outra forma se poderia desenvolver de forma indetetável. Tratamentos para as lesões cutâneas são apenas necessários se estas forem múltiplas, de grandes dimensões, sintomáticas, e/ou esteticamente incomodativas. Vigilância apropriada com exames complementares de diagnóstico para doença uterina e renal deve ser garantida nos casos comprovados por biopsia. Análise genética do gene FH está disponível e deve ser utilizada em todos os casos de suspeita ou doença já confirmada. Aconselhamento genético é também recomendável para outros membros da família do doente.

Recentemente foi descrita uma nova entidade associada à doença, miopatia metabólica ligada ao defice de FH no músculo esquelético, cujo quadro clínico se traduzia por rigidez matinal, dores musculares e câibras excessivas depois de exercício físico leve, bem como de mialgias intensas durante a noite, sendo de desenvolvimento crónico e progressivo.

O papel da especialidade de ORL, verificou-se neste caso, ser de extrema importância na abordagem multidisciplinar junto desta doente, dado que assegurar a boa permeabilidade das vias aéreas se mostrou fundamental, uma vez que uma boa ventilação, e consequente boa oxigenação do músculo esquelético, parece ser crítica para minimizar os sintomas causados por um ciclo de krebs por si já comprometido pelo défice de FH. Assim no caso descrito duas importantes vias metabólicas pareciam estar comprometidas, o ciclo de krebs e a cadeia transportadora de eletrões, comprometendo a produção aeróbica de energia. Esse comprometimento parece ser um dos principais responsáveis pelo quadro miopático apresentado pela doente ao desviar a produção de energia para o ciclo anaeróbio, podendo assim justificar a sintomatologia apresentada.

## **Agradecimentos**

O primeiro agradecimento, vai inevitavelmente para uma pessoa extraordinária que tive a sorte de conhecer, com a qual tanto cresci e aprendi, que tanto me ajudou e sem a qual este trabalho não seria possível. Alguém cuja força foi para mim uma lição de vida, e cuja palavra obrigado não se encerra no facto de estar sempre disponível e de ter feito um trabalho com base na sua história clínica, mas sim no facto de ter permitido que as nossas conversas fossem para mim sempre momentos de crescimento como ser humano. O agradecimento não vai para a doente, a paciente ou mesmo para MEGM, vai para o ser humano que tanto me ensinou.

À minha família, pelo acompanhamento incondicional! Ajudam-me todos os dias a percorrer o meu caminho e a ser uma pessoa cada vez melhor!

À minha namorada, por me acompanhar todos os dias, mesmo longe, entender a minha ausência e ter sempre aquele abraço forte e sincero nos momentos de maior dificuldade.

À família que escolhi, ou seja, aos meus amigos, sempre presentes.

Ao Professor Doutor Augusto Cassul, pelo apoio constante, pela tranquilidade e confiança transmitidas!

Ao Professor Doutor Óscar Dias por me ter ajudado na reta final, pela disponibilidade e compreensão de sempre. Pela forma fácil como sempre consegui chegar a ele. Pela forma fácil como me ajudou a ultrapassar o difícil.

## Bibliografia

(Apresentada por ordem alfabética)

- 1 Adam, J. et al (2011). Renal cyst formation in Fh1-deficient mice is independent of the Hif/Phd pathway: roles for fumarate in KEAP1 succination and Nrf2 signaling. *Cancer Cell* 20, 524–537
- 2 Akram M (2014) Citric acid cycle and role of its intermediates in metabolism. *Cell biochemistry and biophysics* 68: 475-478
- 3 Alam NA, Bevan S, Churchman M, Barclay E, Barker K, Jaeger EE, Nelson HM, Healy E, Pembroke AC, Friedmann PS, Dalziel K, Calonje E, Anderson J, August PJ, Davies MG, Felix R, Munro CS, Murdoch M, Rendall J, Kennedy S, Leigh IM, Kelsell DP, Tomlinson IP, Houlston RS (2001) Localization of a gene (MCUL1) for multiple cutaneous leiomyomata and uterine fibroids to chromosome 1q42.3-q43. *Am J Hum Genet* 68:1264–126
- 4 Alam NA, Rowan AJ, Wortham NC, et al. Genetic and functional analyses of FH mutations in multiple cutaneous and uterine leiomyomatosis, hereditary leiomyomatosis and renal cancer, and fumarate hydratase deficiency. *Hum Mol Genet.* 2003;12: 1241–1252
- 5 Alam NA, Olpin S, Leigh IM. Fumarate hydratase mutations and predisposition to cutaneous leiomyomas, uterine leiomyomas and renal cancer. *Br J Dermatol.* 2005;153:11–17.
- 6 Badeloe S, van Geel M, van Steensel MA, et al. Diffuse and segmental variants of cutaneous leiomyomatosis: novel mutations in the fumarate hydratase gene and review of the literature. *Exp Dermatol.* 2006;15:735–741
- 7 Badeloe S, Frank J. Clinical and molecular genetic aspects of hereditary multiple cutaneous leiomyomatosis. *Eur J Dermatol.* 2009;19:545–551.
- 8 Batchelor RJ, Lyon CC, Highet AS. Successful treatment of pain in two patients with cutaneous leiomyomata with the oral alpha-1 adrenoceptor antagonist, doxazosin. *Br J Dermatol.* 2004;150:775–776.
- 9 Coughlin EM, Christensen E, Kunz PL, Krishnamoorthy KS, Walker V, Dennis NR, Chalmers RA, Elpeleg ON, Whelan D, Pollitt RJ, Ramesh V, Mandell R, Shih VE (1998) Molecular analysis and prenatal diagnosis of human fumarase deficiency. *Mol Genet Metab* 63:254–262
- 10 Christenson LJ, Smith K, Arpey CJ. Treatment of multiple cutaneous leiomyomas with CO2 laser ablation. *Dermatol Surg.* 2000;26:319–322
- 11 Cramer SF, Patel A (1990) The frequency of uterine leiomyomas. *Am J Clin Pathol* 94:435–438

- 12 Espana A, Ornilla E, Zarate R, Gil-Bazo I, Briones P (2015). Metabolic myopathy leiomyomatosis and renal cell cancer in an extended family: novel clinical phenotype in patients with fumarate hydratase mutations. *British Journal of Dermatology*, 2015
- 13 Fernie AR, Carrari F, Sweetlove LJ (2004) Respiratory metabolism: glycolysis, the TCA cycle and mitochondrial electron transport. *Current opinion in plant biology* 7: 254-261
- 14 García Muret MP, Pujol RM, Alomar A, et al. Familial leiomyomatosis cutis et uteri (Reed's syndrome). *Arch Dermatol Res*. 1988;280:S29–S32
- 15 Gellera C, Uziel G, Rimoldi M, Zeviani M, Laverda A, Carrara F, DiDonato S (1990) Fumarase deficiency is na autosomal recessive encephalopathy affecting both the mitochondrial and the cytosolic enzymes. *Neurology* 495 - 499
- 16 George S, Pulimood S, Jacob M, Chandi SM. Pain in multiple leiomyomas alleviated by nifedipine. *Pain*. 1997;73:101–102
- 17 Horton, H.R. L. A. Moran, R. S. Ochs, J. D. Rawn, K. G. Scrimgeour , *Principles of Biochemistry* (3ª Ed) 2002, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ 07458;
- 18 Holst VA, Junkins-Hopkins JM, Elenitsas R. Cutaneous smooth muscle neoplasms: clinical features, histologic findings, and treatment options. *J Am Acad Dermatol*. 2002;46:477–490.
- 19 Isaacs, J. S. et al (2005). HIF overexpression correlates with biallelic loss of fumarate hydratase in renal cancer: novel role of fumarate in regulation of HIF stability. *Cancer Cell* 8, 143–153
- 20 Jason J. Emer, MD; Shayna Solomon, MD; Stephen E. Mercer, MD, PhD (2011). Reed's Syndrome: A Case of Multiple Cutaneous and Uterine Leiomyomas. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology*, December 2011, volume 4, number 21.
- 21 Kilpatrick SE, Mentzel T, Fletcher CD. Leiomyoma of deep soft tissue. Clinicopathologic analysis of a series. *Am J Surg Pathol*. 1994;18:576–582.
- 22 Launonen V, Vierimaa O, Kiuru M, Isola J, Roth S, Pukkala E, Sistonen P, Herva R, Aaltonen LA (2001) Inherited Susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:3387–3392
- 23 Liang Zheng, Simone Cardaci, Livnat Jerby, Elaine D. MacKenzie, Marco Sciacovelli, T. Isaac Johnson, Edoardo Gaude, Ayala King, Joshua D. G. Leach, RuAngelie Edrada-Ebel, Ann Hedley, Nicholas A. Morrice, Gabriela Kalna, Karen Blyth, Eytan Ruppín, Christian Frezza, Eyal Gottlieb (2015), Fumarate induces

redox-dependent senescence by modifying glutathione metabolism. *Nature communications*

- 24 McGinley KM, Bryant S, Kattine AA, et al. Cutaneous leiomyomas lack estrogen and progesterone receptor immunoreactivity. *J Cutan Pathol*. 1997;24:241–24
- 25 Miettinen M, Lehto VP, Virtanen I. Antibodies to intermediate filament proteins. The differential diagnosis of cutaneous tumors. *Arch Dermatol*. 1985;121:736–741
- 26 Ortega JS, Cathy Vocke, Pamela Stratton, W. Marston Linehan, Maria J Merino (2014), Morphologic and molecular characteristics of uterine leiomyomas in hereditary leiomyomatosis and renal cancer (HLRCC) syndrome. *Am J Surg Pathol*.
- 27 Picard M, Hepple RT, Burelle Y. Mitochondrial functional specialization in glycolytic and oxidative muscle fibers: tailoring the organelle for optimal function. *Am J Physiol Cell Physiol* 2012; **302**: C629–C641
- 28 Pithukpakorn M, Toro JR. Hereditary Leiomyomatosis and Renal Cell Cancer. In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, eds. *GeneReviews*. Seattle, Washington: University of Washington; 1993–2006 Jul 31. [Updated 2010 Nov 02].
- 29 Reed WB, Walker R, Horowitz R (1973) Cutaneous leiomyomata with uterine leiomyomata. *Acta Derm Venereol* 53: 409–416
- 30 Sifaki MK, Krueger-Krasagakis S, Koutsopoulos A, et al. Botulinum toxin type A-treatment of a patient with multiple cutaneous piloleiomyomas. *Dermatology*. 2009;218:44–47.
- 31 Smith CG, Glaser DA, Leonardi C. Zosteriform multiple leiomyomas. *J Am Acad Dermatol*. 1998;38:272–273.
- 32 Smith DL, AR Mensenkamp, S Badeloe, MH Breuning, MEH Simon, KY Van Spaendonck, CM Aalfs, JG Post, S Shanley, IPC Krapels, LH Hoefsloot, RJA Van Moorselaar, TM Starink, J-P Bayley, J Frank, MAM Van Steensel, FH Menko (2011). Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families referred for fumarate hydratase germline mutation analysis. *Clinical Genetics*, volume 79, pages 49-59, January 2011.
- 33 Spencer JM, Amonette RA. Tumors with smooth muscle differentiation. *Dermatol Surg*. 1996;22:761–768
- 34 Stewart EA (2001) Uterine fibroids. *Lancet* 357:293–298
- 35 Thompson JA Jr. Therapy for painful cutaneous leiomyomas. *J Am Acad Dermatol*. 1985;13:865–867

- 36 Tomlinson IP, Alam NA, Rowan AJ, Barclay E, Jaeger EE, Kelsell D, Leigh I, et al (2002) Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet* 30:406–410
- 37 Toro JR, Nickerson ML, Wei MH, et al. Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America. *American Journal Human Genetics*. 2003; 73:95–106.
- 38 Wei MH, Toure O, Glenn GM, et al. Novel mutations in FH and expansion of the spectrum of phenotypes expressed in families with hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer. *J Med Genet*. 2006;43:18–27